

1/27

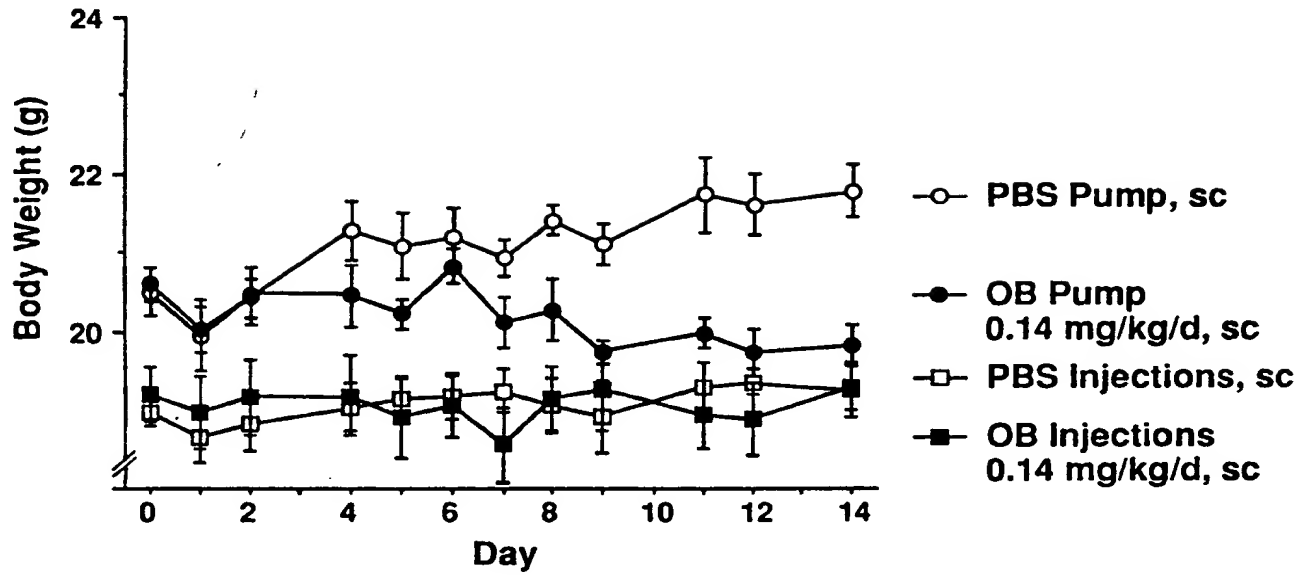


FIG. 1A

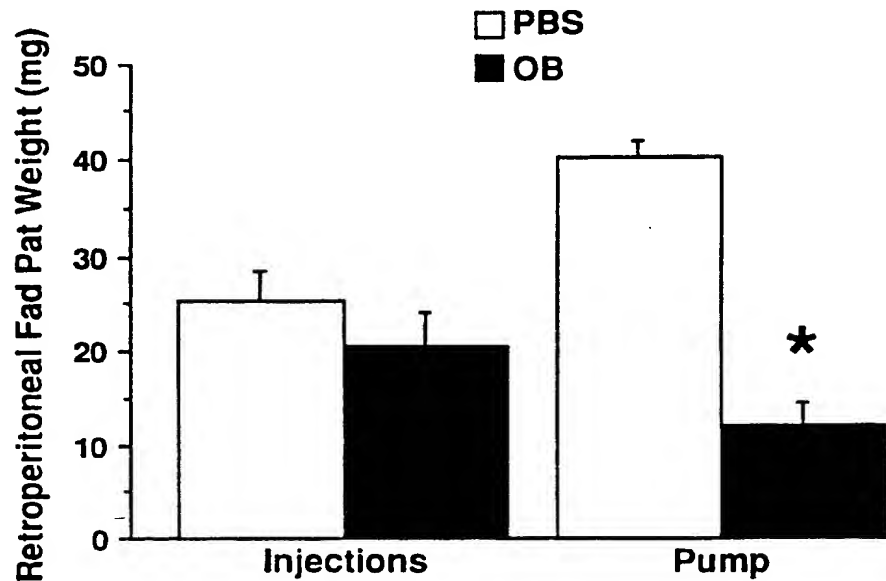


FIG. 1B

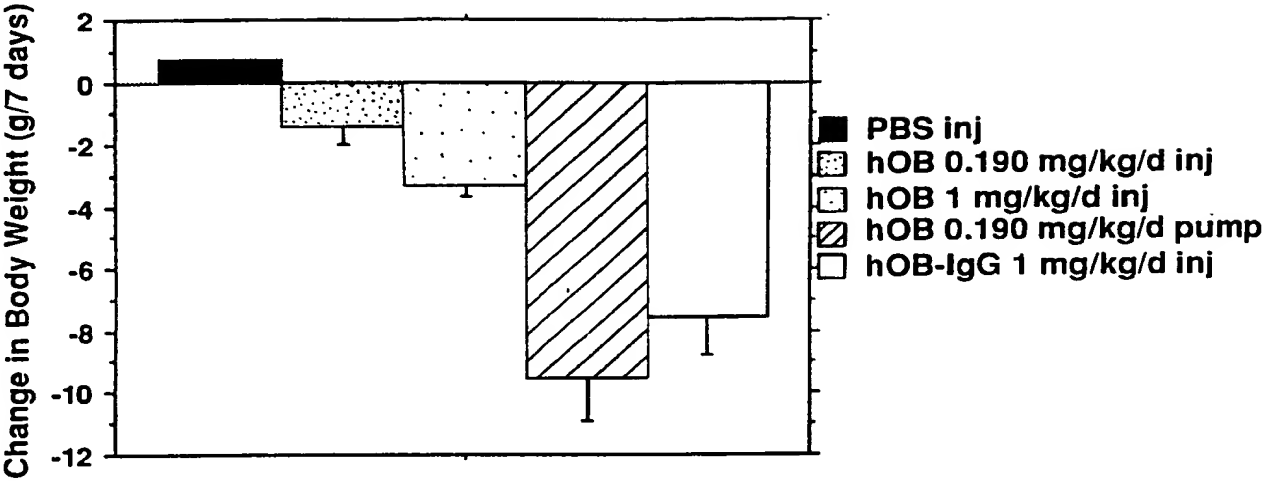


FIG. 2A

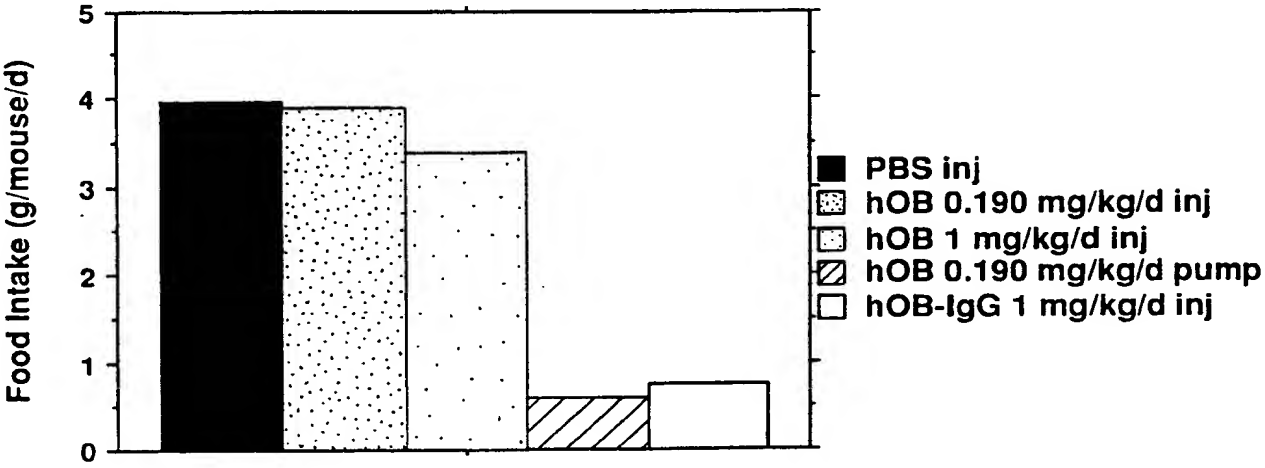


FIG. 2B

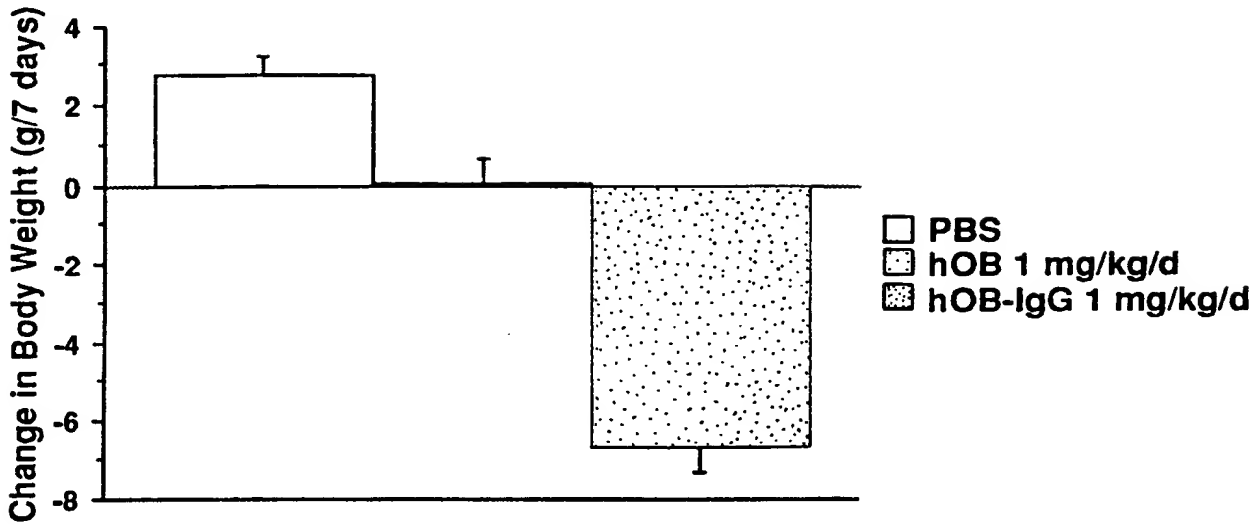


FIG. 3A

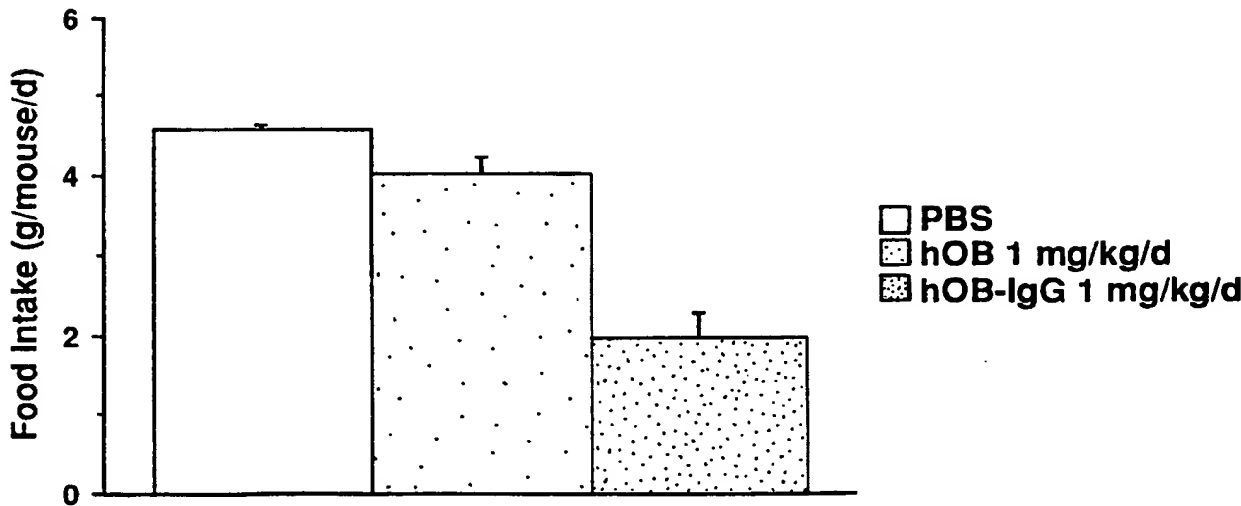


FIG. 3B

4 / 27

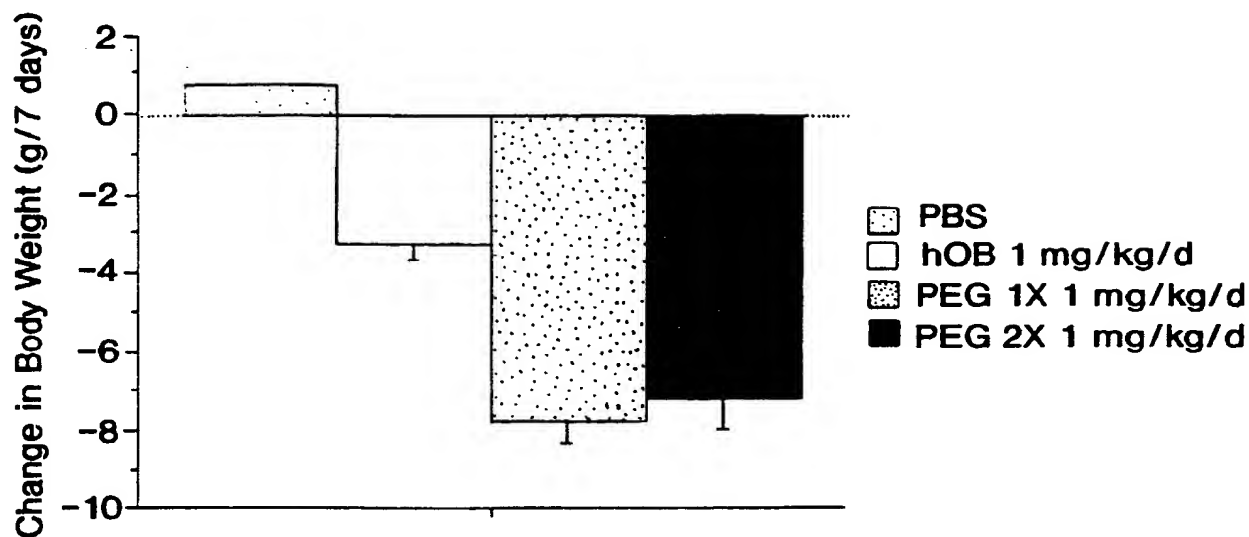


FIG. 4A

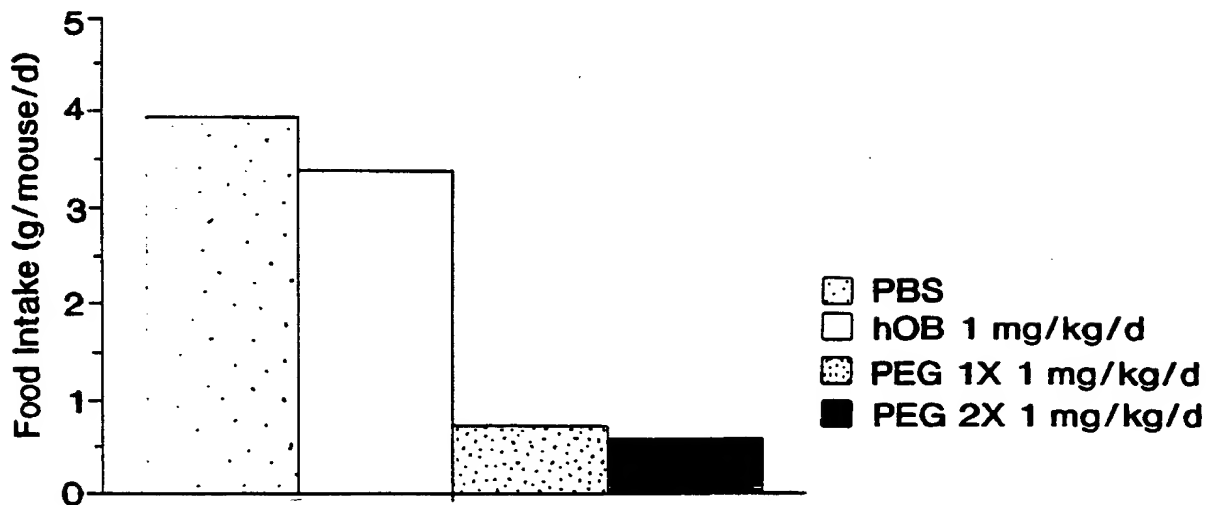


FIG. 4B

5 / 27

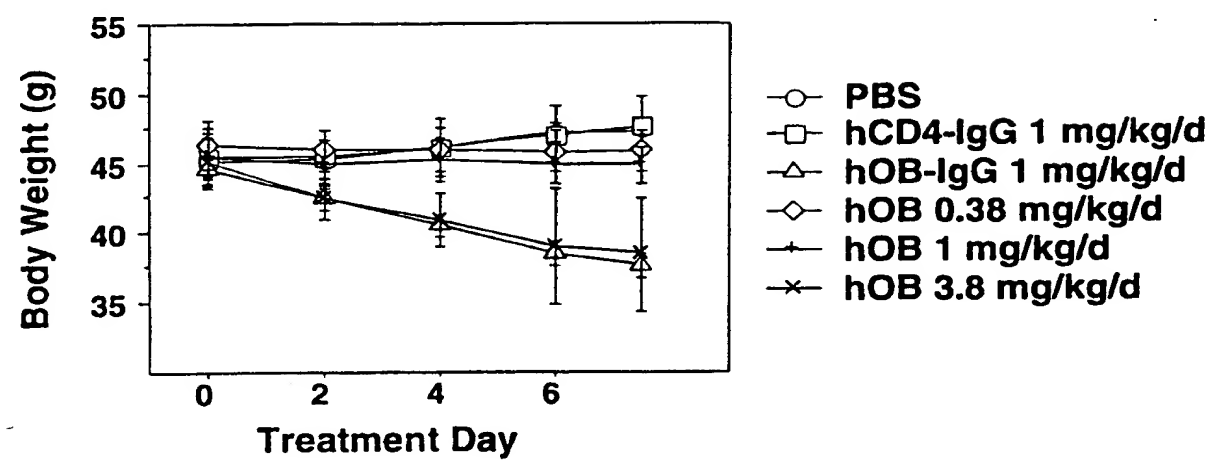


FIG. 5A

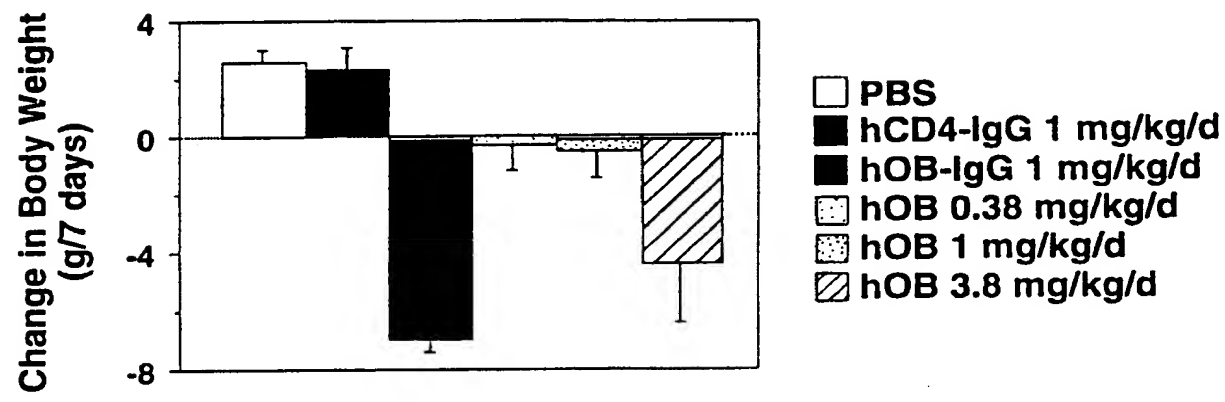


FIG. 5B

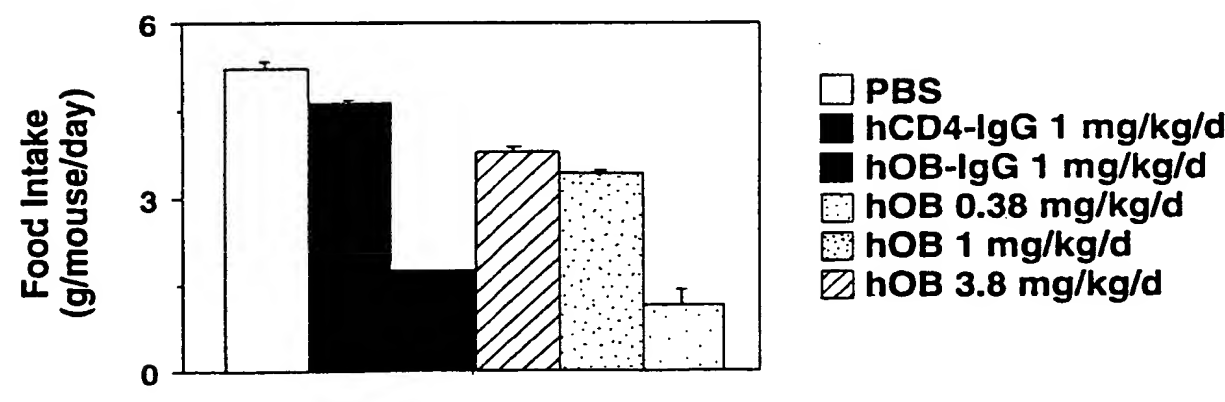


FIG. 5C

6 / 27

20220330 09:06:28

ss.pRK5tkneo.hOB1gC

> sites: std  
> length: 7127 (circular)  
>  
>human OB Clal/BstEII cloning  
>CHV enhancer/promoter

```

    aluI
    sstI
    sacI
    hgiI
    hgiAI/aspHI
    eclI36II
    bspI286
    bsiHKA1
    bmyI
    banII
    taqI
    rmaI
    maeI
    speI
    asel/asnl/vspI
    tru9I
    mseI
    bslI
    acilI
    maeII
    bshI236I
    bstUI
    fnuDII/mvnI
    thaI

1  TTCCAGCTCG CCCGACATTG ATTATTGACT AGTTATTAT AGTAATCAAT TACGGGGTCA TTAGTTCATA GCCCATATAT GGAGTTCCGC GTTACATAAC
   AAGCTCGAGC GGGCTGTAACT TAATAACTGA TCAATAATTA TCATTAGTTA ATGCCCCAGT AATCAAGTAT CGGTATATA CCTCAAGGCG CAATGTATTG

    scrFI
    mvaI
    ecorII
    dsav
    aciI
    bglI bstNI
    sau96I
    haeIII/palI
    asuI apyI[dcmt]
    aciI
    acilI
    maeII
    bglI
    csp6I
    rsaI
    ndeI
    csp6I
    rsaI
    aatII
    hlnII/acyI
    ahaII/bsaHI
    maeII
    hlnII/acyI
    ahaII/bsaHI
    aatII

101 TTACGGTAA TGGCCCGCCT GGCTGACCG CCAACGACCC CGGCCCATTTG ACGTCAATAA TGACGTATGT TCCCATAGTA AGCCCAATAG GGACTTTCCA
    AATGCCATTT ACCGGGGCGA CCGACTGGCG GATTGCTGGG GCGGGGTAAC TGCAGTTATT ACTGCATACA AGGTATCAT TCGGTTATC CCTGAAGGT

201 TTACGTCAC TGGGTGGAGT ATTTACGTA AACTGCCAC TTGGCAGTAC ATCAAGTGA TCATATGCCA AGTACGCCCC CTATTGACGT CAATGACGGT
    AACTGCAGT ACCCACCTCA TAAATGCCAT TTACGGGGT AACCCTCATG TAGTTACAT ACTATACGT TCATCGGGG GATAACTGCA GTTACTGCCA

```

FIG. 6A

7/27

26220-8996480

```

          scfPI          nlaIII          nlaIV          aluI
          mvaI          styI          hincII/acyI          sstI
          ecorII          maeII          aheII/bsaHI          sacI
          aciI          rsaI          aatII          hgiI/aspHI
          bglI          rsaI          bsmAI          eelI36II
          dsav          csp6I          bspI286
          sau96I          bsrI          nlaIII          bsiHKAII
          haeIII/palI          bsrI          nlaIII          bmyI
          asuI          apyI(dcm+)          bsrI          nlaIII          bmyI
          301 AAATGCGCCG CCTGCGCATTG TGGCCAGTAC ATGACCTTAT GGCACCTTCC TACTTGGCAG TACATCTACG TATTAGTCAT CGCTATTACC ATGGTGATGC
              TTTACCGGCG GACCGTAAT ACGGTCATG TACTGGAATA CCTGAAAGG ATGAACCGTC ATGTAGATGC ATAATCAGTA CGGATAATGG TACCCTACG
              nlaIII          styI          ncoI          dsaI          hphI          aciI
              maeII          rsaI          snaBI          bsaJI          sfaNI
              csp6I          bsaAI
              401 GGTGTTGGCA GTACATCAAT GGGCGTGGAT AGCGGTTTGA CTGACGGGGA TTTCCAACTC TCCACCCCAT TGACGTCAAT GGGAGTTGT TTTGGCACCA
                  rsaI          csp6I          bsmAI          maeII          hincII/acyI          nlaIV          hgiCI          bsaI
                  pleI          hinfI          aatII          aatII          aatII          aatII          aatII          aatII
                  501 AAATCAACGG GACTTTCCAA ATGTGCTGTA CAACTCCGCC CCATTGACGC AAATGGGCGG TAGGCGTGTA CGGTGGGAGG TCTATATTAAG CAGAGCTCGT
                      maeIII          aciI          hgaI          rsaI          csp6I          mnlI
                      501 AAATCAACGG GACTTTCCAA ATGTGCTGTA CAACTCCGCC CCATTGACGC AAATGGGCGG TAGGCGTGTA CGGTGGGAGG TCTATATTAAG CAGAGCTCGT
                          TTTAGTTGCC CTGAAAGGTT TTACAGCATT GTTGAGGCGG GGTAACTGCG TTTACCGGCC ATCCGCACAT GCCACCTCC AGATATATTC GTCTCAGCA

```

FIG. 6B

8 / 27

202205306280

haeIII/palI  
mcrI  
eagI/xmaIII/ecI XI  
eaeI  
cfrI  
fnu4HI  
acII  
thaI  
fnuDII/mvnI  
sacII/sstII  
nspBII  
kspI scrFI  
dsal nciI  
bglI bslI mspI  
sau3AI mnlI bstUI  
mboI/ndeII(dam-) hpaII  
dpnI(dam+) bsaJI dsav  
dpnII(dam-) bsh1236I  
alwI(dam-) acII cauII

esp3I  
scrFI  
mvaI bsmAI  
ecorII  
dsav  
batNI hinII/acyI  
apyI(dcm+)  
sau3AI gsuI/bpmI  
mboI/ndeII(dam-)  
dpnI(dam+) hgaI foki  
dpnII(dam-) ahaII/bsaHI

601 TTAGTGAACC GTCCAGATCGC CTGGAGACGC CATCCACGCT GTTTTGACCT CCATAGAAGA CACCGGGACC GATCCAGCCT CGCGCGCCGG GAACGGTGCA  
AATCACTTGG CAGTCTAGCG GACCTCTGCG GTAGTGCGA CAAAACTGGA GGTATCTTCT GTGCCCTGG CTAGGTGCGA GGCGCGCGCC CTGCCACGT  
~Begin RNA

tfII  
acII  
thaI hinfi  
fnuDII/mvnI  
bstUI  
bsh1236I

701 TTGGAACCGG GATTCGCCGT GCCAACAGTG ACGTAAGTAC CGCTATAGA GTCTATAGCG CCACCCCTT GCCTTCGTTA GAACGGCGCT ACAATTAATA  
AACCTTGGC CTAAGGGCA CGGTTCTCAC TGCATTTCATG GCGATATCT CAGATATCCG GGTGGGGAA CCGAAGCAAT CTTCGCCGA TGTAAATTAT  
~sp6 promoter

FIG. 6C



9 / 27

26220\*E936/80

```

sau96I
avaII
asuI
scrFI
mvaI
ecorII
dsav
bstNI
apyI(dcm+)
balI bsaJI
maeIII
hphI scfI fokI
801 CATAACCTTA TGTATCATAC ACATACGATT TAGGTGACAC TATAGAATAA CATCCACTTT GCCTTTCTCT CCACAGGTGT CCACTCCCAG GTCCAACCTGC
GTATTGGAAT ACATAGTATG TGTATGCTAA ATCCACTGTG ATATCTTATT GTAGGTGAAA CGGAAGAGAG GGTGTCCACA GGTGAGGTG CAGTTGACG
*sp6 RNA start
ppu10I
mnII taqI nsiI/avaIII
bsaJI clai/bspl06 nlaIV
901 ACCTCGGTC TATCGATATG CATTCGGGAA CCCTGTGCGG ATCTTGTGG CTTTGGCCCT ATCTTTCTA TGTCCAAGCT GTGCCCCATCC AANAAGTCCA
TGGAGCCNAG ATAGCTATAC GTAACCCCTT GGCACACGCC TAAGACACCC GAAACCGGGA TAGAAAGAT ACAGGTTCGA CACGGGTAGG TTTTCAGGT
1 Met HistripGlyt hrLeuCysGI yPheLeuTrp LeuTrpProt yrLeuPheTy rValGlnAla ValProIleG InLysValGln
^cloning linker ^human OB start
sau3AI
mbol/ndeII(dam-)
dpsI(dam+)
scrFI
mvaI
ecorII
dsav
bstNI
apyI(dcm+)
hphI dpsII(dam-)
mnII maeIII alvi(dam-)
bsmAI
1001 AGATGACACC AANAACCTCA TCAAGACAAAT TGTACACAGG ATCAATGACA TTTCACACAC GCAGTCAGTC TCCTCCAAC AGAAGTCAC CGGTTTGGAC
TCTACTGTGG TTTTGGAGT AGTTCTGTTA ACAGTGGTCC TAGTTACTGT AAAGTGTGTG CGTCAGTCAG AGCAGGTTTG TCTTCAGTG GCCAACCCTG
29 AspAspThr LysThrLeuI leLysThrII leLysThrArg IleAsnAspI leSerHisTh rGlnSerVal SerSerLysG InLysValTh rGlyLeuAsp

```

FIG. 6D

[illegible]

**FIG. 6**

11 / 27

[illegible]

**FIG. 6F**

[illegible][illegible]

**FIG. 6G**

$\frac{1}{2}$   $\frac{1}{3}$   $\frac{1}{4}$   $\frac{1}{5}$   $\frac{1}{6}$   $\frac{1}{7}$   $\frac{1}{8}$   $\frac{1}{9}$   $\frac{1}{10}$   $\frac{1}{11}$   $\frac{1}{12}$   $\frac{1}{13}$   $\frac{1}{14}$   $\frac{1}{15}$   $\frac{1}{16}$   $\frac{1}{17}$   $\frac{1}{18}$   $\frac{1}{19}$   $\frac{1}{20}$   $\frac{1}{21}$   $\frac{1}{22}$   $\frac{1}{23}$   $\frac{1}{24}$   $\frac{1}{25}$   $\frac{1}{26}$   $\frac{1}{27}$   $\frac{1}{28}$   $\frac{1}{29}$   $\frac{1}{30}$   $\frac{1}{31}$   $\frac{1}{32}$   $\frac{1}{33}$   $\frac{1}{34}$   $\frac{1}{35}$   $\frac{1}{36}$   $\frac{1}{37}$   $\frac{1}{38}$   $\frac{1}{39}$   $\frac{1}{40}$   $\frac{1}{41}$   $\frac{1}{42}$   $\frac{1}{43}$   $\frac{1}{44}$   $\frac{1}{45}$   $\frac{1}{46}$   $\frac{1}{47}$   $\frac{1}{48}$   $\frac{1}{49}$   $\frac{1}{50}$   $\frac{1}{51}$   $\frac{1}{52}$   $\frac{1}{53}$   $\frac{1}{54}$   $\frac{1}{55}$   $\frac{1}{56}$   $\frac{1}{57}$   $\frac{1}{58}$   $\frac{1}{59}$   $\frac{1}{60}$   $\frac{1}{61}$   $\frac{1}{62}$   $\frac{1}{63}$   $\frac{1}{64}$   $\frac{1}{65}$   $\frac{1}{66}$   $\frac{1}{67}$   $\frac{1}{68}$   $\frac{1}{69}$   $\frac{1}{70}$   $\frac{1}{71}$   $\frac{1}{72}$   $\frac{1}{73}$   $\frac{1}{74}$   $\frac{1}{75}$   $\frac{1}{76}$   $\frac{1}{77}$   $\frac{1}{78}$   $\frac{1}{79}$   $\frac{1}{80}$   $\frac{1}{81}$   $\frac{1}{82}$   $\frac{1}{83}$   $\frac{1}{84}$   $\frac{1}{85}$   $\frac{1}{86}$   $\frac{1}{87}$   $\frac{1}{88}$   $\frac{1}{89}$   $\frac{1}{90}$   $\frac{1}{91}$   $\frac{1}{92}$   $\frac{1}{93}$   $\frac{1}{94}$   $\frac{1}{95}$   $\frac{1}{96}$   $\frac{1}{97}$   $\frac{1}{98}$   $\frac{1}{99}$   $\frac{1}{100}$

1901 CGTGGAGTGG GAGAGCAATG GGCAGCCGGA GAACAACACTAC AAGACCACCG CTCCCCTGCT GGACTCCGAC GACTCTTCT TCCTCTACAG CAAGCTCACC  
GCACCTCACC CTCTCGTTAC CCGTCGGCT CTCTGTGATG TTCTGGTGG GAGGGCAGCA CCTGAGGCTG CCGAGGAGA AGGAGATGTC GTTCAGTGG  
329 ValGluTrp GluSerAsnG LyGlnProG1 uAsnAsnTyr LysThrThrP roProValle uAspSerAsp GlySerPheP heLeuTyrSe rLysLeuThr

2001 GTGGACAAGA GCAGGTGGCA GCAGGGGAAC GTCTTCTCAT GCTCCGTGAT GCATGAGGCT CTGCACAACC ACTACACGCA GAAGAGCCTC TCCCTGTCTC  
CACCTGTCT CGTCCACCGT CGTCCCCTTG CAGAAGAGTA CGAGGCACTA CGTACTCCGA GACGTGTGG TGATGTGGT CTTCTCGGAG AGGACACAGAG  
362 ValAspLysS erArgTrpG1 nGlnGlyAsn ValPheSerC ysSerValMe thisGluAla LeuHisAsnH iStyThrG1 nLysSerLeu SerLeuSerPro

2101 CGGGTAATG AGTGGCAGG CCGTAGATC GACCTGCAGA AGCTTCTAGA GTCCACCTGC AGAAGCTTGG CCGCCATGGC CCAACTGTGT TATTCAGCT  
GCCCATTTAC TCACGCTGCC GGCATCTCAG CTGGACGTCT TCGAAGATCT CAGCTGGACG TCTTCGAACC GCCGTACCG GGTGGAACA ATAACGTCGA  
396 GlyLys

2201 TATAATGGT ACAATAAAG CAATAGCATC ACAATTTCA CAAATAAGC ATTTTTTCA CTGCATTCTA GTTGCTGTTT GTCCAAACTC ATCAATGTAT  
ATATTACCAA TGTATTATTC GTTATCGTAG TGTTTAAAGT GTTTATTTCG TAAAAAAGT GACGTAAGAT CAACACCAA CAGGTTGAG TAGTTACATA

**FIG. 6H**

14 / 27

	1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028	2029	2030	2031	2032	2033	2034	2035	2036	2037	2038	2039	2040	2041	2042	2043	2044	2045	2046	2047	2048	2049	2050	2051	2052	2053	2054	2055	2056	2057	2058	2059	2060	2061	2062	2063	2064	2065	2066	2067	2068	2069	2070	2071	2072	2073	2074	2075	2076	2077	2078	2079	2080	2081	2082	2083	2084	2085	2086	2087	2088	2089	2090	2091	2092	2093	2094	2095	2096	2097	2098	2099	2100	2101	2102	2103	2104	2105	2106	2107	2108	2109	2110	2111	2112	2113	2114	2115	2116	2117	2118	2119	2120	2121	2122	2123	2124	2125	2126	2127	2128	2129	2130	2131	2132	2133	2134	2135	2136	2137	2138	2139	2140	2141	2142	2143	2144	2145	2146	2147	2148	2149	2150	2151	2152	2153	2154	2155	2156	2157	2158	2159	2160	2161	2162	2163	2164	2165	2166	2167	2168	2169	2170	2171	2172	2173	2174	2175	2176	2177	2178	2179	2180	2181	2182	2183	2184	2185	2186	2187	2188	2189	2190	2191	2192	2193	2194	2195	2196	2197	2198	2199	2200	2201	2202	2203	2204	2205	2206	2207	2208	2209	2210	2211	2212	2213	2214	2215	2216	2217	2218	2219	2220	2221	2222	2223	2224	2225	2226	2227	2228	2229	2230	2231	2232	2233	2234	2235	2236	2237	2238	2239	2240	2241	2242	2243	2244	2245	2246	2247	2248	2249	2250	2251	2252	2253	2254	2255	2256	2257	2258	2259	2260	2261	2262	2263	2264	2265	2266	2267	2268	2269	2270	2271	2272	2273	2274	2275	2276	2277	2278	2279	2280	2281	2282	2283	2284	2285	2286	2287	2288	2289	2290	2291	2292	2293	2294	2295	2296	2297	2298	2299	2300	2301	2302	2303	2304	2305	2306	2307	2308	2309	2310	2311	2312	2313	2314	2315	2316	2317	2318	2319	2320	2321	2322	2323	2324	2325	2326	2327	2328	2329	2330	2331	2332	2333	2334	2335	2336	2337	2338	2339	2340	2341	2342	2343	2344	2345	2346	2347	2348	2349	2350	2351	2352	2353	2354	2355	2356	2357	2358	2359	2360	2361	2362	2363	2364	2365	2366	2367	2368	2369	2370	2371	2372	2373	2374	2375	2376	2377	2378	2379	2380	2381	2382	2383	2384	2385	2386	2387	2388	2389	2390	2391	2392	2393	2394	2395	2396	2397	2398	2399	2400	2401	2402	2403	2404	2405	2406	2407	2408	2409	2410	2411	2412	2413	2414	2415	2416	2417	2418	2419	2420	2421	2422	2
--	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	---

[illegible]

**FIG. 61**

15 / 27

26220 2996280

```

fnu4HI
bglI
sfII
haeIII/palI
mnlI mnlI ddeI
haeIII/palI bsaJI mnlI aluI
mnlI bsaJI acII haeIII/palI
mnlI bsaJI acII AGGCGGAGG CGCCTCGGCC TCTGAGCTAT
CGGCGGAGT GAGCGGGTC AAGCGGGTA AGAGCGGGG TACCAGTGA TTAATAAAA TAAATAGTC TCCGCTCCG CGGAGCGCG AGACTCGATA

```

```

scfI
mvaI
sau96I
nlaIV
avaII sau96I
thaI ecorII
fnuDII/mvnl
bstUI dsav
bsh1236I avaII
hinPI bstNI
hhaI/cfoI asuI
fnu4HI asuI apyI(dcm+)
acII acII bsaJI
CGGCGGAGG TTTTGGAG GCCTAGGCTT TTGCAAAAG CTGTTAATC GAACACGCG ATGAGTCGG CGCGGCGCGG TCCAGSTCC
AGGTCTTCAT CACTCTCCG AAAAACCTC CGGATCCGAA AACGTTTTTC GACATTAAG CTGTGCGTC TACGTCAGCC CGCGCGCGCC AGGTCCAGG
start pUC118

```

~TK promoter

```

sau3AI
mboI/ndeII(dam-)
dpnI(dam+)
sau3AI
mboI/ndeII(dam-)
dpnI(dam+)
bstYI/xhoII
bglII dpnII(dam-)
tru9I hincII/hindII acII dpnII(dam-) bsmAI
acII mseI hgaI fnu4HI bclII(dam-)
CGGCGGAGG TTAAGTGAC GCGTGTGGCC TCGACACCG AGCGACCTG CAGGACCCG CTTAACAGCG TCAACAGCGT GCCGAGATC TGATCAAGAG
TGAAGCGTAT AATTCCACTG CGCACACCG AGCTTGTGGC TCGCTGGAC GTGCTGGGCG GAATTGTCCG AGTTGTCCA CGGCGTCTAG ACTAGTTCTC
tn5 neomycin phosphotransferase gene.

```

FIG. 6J

[illegible]

sau3AI  
 mboI/ndeII[dam-]  
 dpnI[dam+]  
 dpnII[dam-]  
 mnII  
 mamI[dam-]  
 bsaBI[dam-]  
 fokI alvi[dam-] nlaIII  
 2901 ACAGCATGAG GATCGTTTCG CATGATTGAA CAAGATGGAT TGCACGCCAG TTCTCCGGCC GTTGGGTGG AGAGGCTATT CGGCTATGAC TGCGCACMAC  
 TGTCCTACTC CTAGCAAGC GTACTAATT GTTCTACCTA ACGTGCGTCC AGAGGCCCGG CGAACCCCACC TCCTCCGATAA GCCGATACTG ACCCGTGTG  
 aciI  
 fnu4HI  
 haeIII/pali  
 mcrI  
 eagI/xmaIII/ecIXI  
 eaeI  
 cfrI  
 mspI  
 bspMI  
 hpall  
 mnII  
 bsrI  
 bsp1286  
 bmyI  
 hinPI  
 hhal/cfoI  
 nlaIV  
 narI scrFI  
 kasI nciI  
 hinII/acyI  
 hgiCI mspI  
 haeII hpall  
 banI dsav  
 hinPI ahaII/bsaHI  
 hhal/cfoI cauli  
 3001 AGACAATCGG CTGCTCTGAT GCCGCCGTGT TCCGGCTGTC AGCCGAGGG CGCCCGTTTC TTTTGTCAA GACCGACCTG TCCGGTGCCC TGAATGNACT  
 TCTGTTAGCC GACGAGACTA CGCGCGCACA AGCCGACAG TCCGCTCCCC CGCGGCCAAG AAAACAGATT CTGCTGGAC AGGCCACGGG ACTTACTTGA  
 aciI  
 fnu4HI  
 bbvI sfaNI bslI hpall  
 mspI  
 hinPI  
 hhal/cfoI  
 drdI  
 bsaWI  
 scfI  
 pstI  
 bsgI  
 fnu4HI  
 thal  
 fnuDII/mvnI  
 bstUI  
 bsh1236I  
 hinPI  
 fnu4HI  
 bbvI aciI  
 mnII hhal/cfoI  
 haeII  
 mscI/bali  
 hael  
 eaeI  
 cfrI  
 hgiAI/aspHI  
 bsp1286  
 aluI  
 pvuII  
 fnu4HI  
 bbvI bsiHKA  
 hinPI bmyI  
 hhal/cfoI  
 mstI nspBII  
 avii/fspi  
 taqi  
 maeII  
 tthlIII/aspI  
 eco57I  
 maeII  
 maefII  
 aciI  
 bsrI  
 bbvI  
 fnu4HI  
 3101 GCAGGACGAG GCAGCGCGG TATCGTGGCT GGCCACGACG GCGGTTCTT GCGCAGCTGT GCTCGACGTT GTCACTGAAG CCGGAAGGGA CTGGCTGCTA  
 COTCCTGCTC CGTCGGCGCG ATAGCACCGA CCGGTGCTGC CCGCAAGGAA CCGCTCGACA CGAGCTGCNA CATGACTTC GCCCTTCCCT GACCGACGAT

**FIG. 6K**



[illegible]

FIG. 6L

**FIG. 6M**

hinPI  
 hhal/cfoI  
 thal  
 fnuDII/mvnI  
 bstUI  
 mspI  
 hpall  
 bsmAI  
 bsaHI  
 nlaIV  
 aciI  
 mnII  
 3901 GAGGCTAACT GAAACACGGA AGGAGACAACT ACCGGAAGGA ACCCGCGCTA TGACGGCAAT AAAAGACAG ATAAAACGC ACGGCTGTG GGTGTTTGT  
 CTCGATGGA CTTGTGCTT TCCTCTGTTA TGGCCTTCCT TGGCGCGGAT ACTGCCGTTA TTTTCTGTC TTATTTTGGC TGCCACAAAC CCAGCAACA

[illegible]

FIG. 6N

[illegible]

FIG. 60

4401

acII  
thai  
fnuDII/mvni  
bstUI  
sacII/sstII  
haeIII/palI bsh1236I  
mcrI  
nsp8II  
kspI  
dsal  
bsaJI  
hphI eagI/xmaII/eclXI  
maeIII eaeI bsaJI  
bsteII cfrI acII  
TTTTGATTGG TCACCACGGC CGAGTTTCGG  
CGCGGGCTG CTTGATTGG ACTGATGGC TAGAGACGGG GAAGAAGCGA CCATGCTCT CCGGAAACCA AACATAACCC AGTGGTGCCG GCTCAANGCG

mspI  
hpaII  
acII  
fnu4HI  
GCGGCGGAC GAACTAAACC TGACTACGGC ATCTCTGCCC CTTCCTCGCT GGTACGAGCA CCGCTTTGCT TTTGATTGG TCACCACGGC CGAGTTTCGG  
CGCGGGCTG CTTGATTGG ACTGATGGC TAGAGACGGG GAAGAAGCGA CCATGCTCT CCGGAAACCA AACATAACCC AGTGGTGCCG GCTCAANGCG

hlnPI mspI  
hhaI/cfoI  
hpaII  
fnuDII/mvni  
bstUI bsaWI  
bsh1236I  
alul  
nlaIII  
nlaIII acII bslI  
bcgI  
GCGGCGGAC TAGTCATGCC CCGGCCCCAC CGGAGGAGCG  
CTGTCCTAGC AGTTGCATCA TAAAGAAGAC AGTCATAAGT GCGGCGGACCA TAGTCATGCC CCGGCCCCAC CGGAGGAGCG  
CGCGGGCTG GACAGGATGC TCAACGTACT ATTTCTTCTG TCAGTATTCA CCGCGTCTCT ATCAGTACGG GCGCGGGTG GCTTCTCTCG  
pBR322 sequence

FIG. 6P

46220 E 596230

4601

bsri

ACTGACCCAA

TTCCGAGAG

TTCCGTAGC

CAGCTGCCG

GCGTAGTTC

GTTGGTATCA

TGCGCGGAC

ATCGCGCGT

AATCGCGC

GCCACACCA

fnu4HI

haeIII/palI

mcrI

eagI/xmaIII/ecI XI

eaeI

notI

fnu4HI

aciI

mcrI

bsrBI

aciI

sfaNI

taqI

cfrI

sfaNI

GTGAGCGGC

CGCATCAAG

CAACCATAGT

ACGCCCTTG

TAGCGGCGCA

TTAGCGCGG

CGGGTGTGGT

hlnPI

hhaI/cfoI

rsal

hhaI/cfoI

mspI

hpaII

naeI

maeII

cfrI01

4701

bsri

ACTGACCCAA

TTCCGAGAG

TTCCGTAGC

CAGCTGCCG

GCGTAGTTC

GTTGGTATCA

TGCGCGGAC

ATCGCGCGT

AATCGCGC

GCCACACCA

fnu4HI

haeIII/palI

mcrI

eagI/xmaIII/ecI XI

eaeI

notI

fnu4HI

aciI

mcrI

bsrBI

aciI

sfaNI

taqI

cfrI

sfaNI

GTGAGCGGC

CGCATCAAG

CAACCATAGT

ACGCCCTTG

TAGCGGCGCA

TTAGCGCGG

CGGGTGTGGT

hlnPI

hhaI/cfoI

rsal

hhaI/cfoI

mspI

hpaII

naeI

maeII

cfrI01

4801

bsri

ACTGACCCAA

TTCCGAGAG

TTCCGTAGC

CAGCTGCCG

GCGTAGTTC

GTTGGTATCA

TGCGCGGAC

ATCGCGCGT

AATCGCGC

GCCACACCA

fnu4HI

haeIII/palI

mcrI

eagI/xmaIII/ecI XI

eaeI

notI

fnu4HI

aciI

mcrI

bsrBI

aciI

sfaNI

taqI

cfrI

sfaNI

GTGAGCGGC

CGCATCAAG

CAACCATAGT

ACGCCCTTG

TAGCGGCGCA

TTAGCGCGG

CGGGTGTGGT

hlnPI

hhaI/cfoI

rsal

hhaI/cfoI

mspI

hpaII

naeI

maeII

cfrI01

4901

bsri

ACTGACCCAA

TTCCGAGAG

TTCCGTAGC

CAGCTGCCG

GCGTAGTTC

GTTGGTATCA

TGCGCGGAC

ATCGCGCGT

AATCGCGC

GCCACACCA

fnu4HI

haeIII/palI

mcrI

eagI/xmaIII/ecI XI

eaeI

notI

fnu4HI

aciI

mcrI

bsrBI

aciI

sfaNI

taqI

cfrI

sfaNI

GTGAGCGGC

CGCATCAAG

CAACCATAGT

ACGCCCTTG

TAGCGGCGCA

TTAGCGCGG

CGGGTGTGGT

hlnPI

hhaI/cfoI

rsal

hhaI/cfoI

mspI

hpaII

naeI

maeII

cfrI01

FIG. 6Q

[illegible]

**FIG. 6R**

24 / 27

5501 GAACGTTTTC CAATGATGAG CACTTTTAA GTTCTGCTAT GTGGCGCGGT ATTATCCGT GATCAGCCGC GCCAAGAGCA ACTCGGTGCG CGCATACACT  
CTTCCAAAG GTTACTACTC GTGAAATTT CAAGACGATA CACCGCGCCA TAATAGGCA CTACTCGCGC CGGTTCTCGT TGAGCCAGCG CGGTATGTGA

5601 ATTCTCAGAA TGACTTGGTT GAGTACTCAC CAGTCACAGA AAGCATCTT ACGGATGCGA TGACAGTAAG AGAATTATGC AGTCTGCGCA TAACCATGAG  
TAAGAGTCTT ACTGAACCA CTGATGACTG GTGACTGTCT TTTCTGTAGAA TGCCTACCGT ACTGTGATTC TCTTAATAGC TCACGACCGT ATTGCTACTC

5701 TGATNACACT GCGGCCAAT TACTTCTGAC AACGATCGGA GCACCGAAGG AGCTAACCGC TTTTTCAC AACATGGGG ATCATGTAAC TCGCCTTGAT  
ACTATTGTGA CGCCGGTTGA ATGAAGACTG TTGCTAGCCT CTTGCTTCC TCGATTGGCG AAAAAGCTG TTGTACCCCG TAGTACATTG AGCGGAACCTA

5801 CGTTGGGAC CGGAGCTGAA TGAAGCCATA CCAAGCAGC AGCGTCACAC CACGATGCCA GCAGCAATGG CAACAAGCTT CGCACAACCTA TTAACGTGCG  
GCAACCCCTTG GCCTCGACTT ACTTCGGTAT GCTTGTCTGC TCGCACTGTG GTGCTACGGT GTCGTTACC GTTGTGCA CGGTTTGAT AATTGACCGC

5901 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

6001 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

6101 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

6201 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

6301 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

6401 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

6501 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

6601 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

6701 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

6801 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

6901 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

7001 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

7101 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

7201 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

7301 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

7401 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

7501 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

7601 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

7701 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

7801 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

7901 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

8001 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

8101 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

8201 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

8301 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

8401 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

8501 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

8601 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

8701 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

8801 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

8901 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

9001 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

9101 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

9201 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

9301 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

9401 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

9501 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

9601 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

9701 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

9801 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

9901 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

1000 GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT GATGATGAGT

FIG. 6S



25/ 27

```

mspI      bglI
hpaII     sau96I
scrFI     haeIII/palI
          hinPI asuI mspI
          hhaI/cfoI hpaII
          sau96I
          auaI
          asuI
          CAGGACCACT TCTGGCTCG GCCCTTCCGG CTGGCTGGTT
          TCTAGCTTCC CGGCAACAT TAATAGACTG GATGAGGCG GATAAGTTG
          TTGATGAATG AGATCAAGG GCGGTGTTA ATTATCTGAC CTACCTCCG
          CTATTTCAC GTCCTCTGTA AGACGGAGC CGGNAAGGCC GACCGACCAA

          aciI
          thal
          fnuDII/mvni
          bstUI
          bsmAI
          fnu4HI nlaIV
          sau96I
          asuI
          bsaI bsh1236I bbvI bsri haeIII/palI mnlI
          gsuI/bpmI
          CCGGTGAGCG TGGGTCTCGG GGATCATTTG CAGCACTCGG GCCAGATGGT
          ATAACGACTA TTATAGACTC GCCCACTCGC ACCCAGAGCG CCATAGTAAC
          GTCGTGACCC CGGTCTACCA TTCGGGAGCG CATAGCATCA ATAGATGTGC
          eam1105I

          ddel
          sau3AI nlaIV
          mbol/ndeII[dam-] mnlI
          dpnI[dam+] hgiCI
          dpnII[dam-] banI
          tru9I
          msel
          maeIII

          pleI
          hinfI
          foki
          AGGCAACTAT GGATGAACGA AATAGACAGA TCGCTGAGAT AGGTGCCTCA
          CTGATTAAAGC ATTGGTAACT GTCAGACCAA GTTACTCAT
          TCCCCCTCAG TCCGTTGATA CCTACTTGCT TTATCTGTCT ACCGACTCTA
          TCCACGGAGT GACTAATTGG TAACCATTGA CAGTCTGGTT CAATGAGTA

          hphI
          rmaI sau3AI
          sau3AI mbol/ndeII[dam-]
          mbol/ndeII[dam-]
          dpnI[dam+] dpnI[dam+]
          tru9I dpnII[dam-] dpnII[dam-]
          ahalII/draI maeI alwI[dam-]
          tru9I bstyI/xhoII bstyI/xhoII
          msel msel alwI[dam-] mbolII[dam-]
          ahalII/draI
          tru9I
          msel
          bspHI
          rcal
          maeII
          tru9I
          msel

          5901 AACTACTTAC TCTAGCTTCC CGGCAACAT TAATAGACTG GATGAGGCG
          GATAAGTTG CAGGACCACT TCTGGCTCG GCCCTTCCGG CTGGCTGGTT
          TTGATGAATG AGATCAAGG GCGGTGTTA ATTATCTGAC CTACCTCCG
          CTATTTCAC GTCCTCTGTA AGACGGAGC CGGNAAGGCC GACCGACCAA

          6001 TATTGCTGAT AATCTGGAG CCGGTGAGCG TGGGTCTCGG
          GGATCATTTG CAGCACTCGG GCCAGATGGT AAGCCCTCCC
          GTATCGTAGT TATCTACACG
          ATAACGACTA TTATAGACTC GCCCACTCGC ACCCAGAGCG
          CCATAGTAAC GTCGTGACCC CGGTCTACCA TTCGGGAGCG
          CATAGCATCA ATAGATGTGC

          6101 ACGGGGAGTC AGGCAACTAT GGATGAACGA AATAGACAGA
          TCGCTGAGAT AGGTGCCTCA CTGATTAAAGC ATTGGTAACT
          GTCAGACCAA GTTACTCAT
          TCCCCCTCAG TCCGTTGATA CCTACTTGCT TTATCTGTCT
          ACCGACTCTA TCCACGGAGT GACTAATTGG TAACCATTGA
          CAGTCTGGTT CAATGAGTA

          6201 ATATACTTTA GATTGATTTA AACTTCATT TTTAATTTAA
          AGGATCTAG GTGAGATCC TTTTGTATAA TCTCATGACC
          AAATCCCTT AAGTGAGTT
          TATATGAAT CTACTAAT TTTGAAGTAA AATTAAAT
          TCTCTAGG AAATCTATT AGATGACTGG TTTAGGGAA
          TTGCACCTCA

```

FIG. 6T

26223 23364 653

sau3AI  
mbol/ndelI{dam-}  
dpnI{dam+} sau3AI  
dpnII{dam-} mbol/ndelI{dam-} thal  
bstYI/xhoII dpnI{dam+} fnuDII/mvnI  
sau3AI alwI{dam-} dpnII{dam-} bstUI  
mbol/ndelI{dam-} alwI{dam-} bsh1236I  
dpnI{dam+} mbolI{dam-} hinPI fnu4HI  
dpnII{dam-} bstYI/xhoII hhal/cfoI bbvI

ddeI hgaI  
6301 TTCGTTCCAC TGAGCGTCAG ACCCGGTAGA AAGATCAAA GGATCTCTT TTTCTCGCG GTAATCTGCT GCTTGCAAC AAAAAACCA  
AAGCAAGGTG ACTCGCAGTC TGGGGCATCT TTTCTAGTTT CCTAGAAGAA AGCTTCCAT TGACCGAAGT CGTCTCGCGT CTATGGTTA TGACAGGAAG

sau3AI  
mbol/ndelI{dam-}  
dpnI{dam+}  
dpnII{dam-}  
alwI{dam-}

aciI  
nsp8II  
6401 CCGCTACGAG CGGTGGTTTG TTTGCCGGAT CAAGAGCTAC CAATCTTTT TCGGAAGTA ACTGGTTCA GCAGAGCGCA GATACCAAT ACTGTCTTC  
GGCGATGTC GCCACCAAC AACGGCCTA GTTCTCGATG GTTGAGAAA AGCTTCCAT TGACCGAAGT CGTCTCGCGT CTATGGTTA TGACAGGAAG

aciI  
nsp8II  
bslI haeI  
haeII/palI  
6501 TAGTGAGCC GTAGTAGGC CACCACCTCA AGAATCTGT AGCAGCGCCT ACATACCTCG CTCTGCTAAT CTGTTACCA GTGGCTGCTG CCAGTGGCGA  
ATCACATCGG CATCAATCCG GTGGTGAAGT TCTTGACACA TCGTGCGGGA TGATATGGAGC GAGACGATTA GGACAATGGT CACCGACGAC GGTCAACCGT

bsrI  
maeIII  
eco57I  
hhal/cfoI  
hinPI  
maeI  
fnu4HI  
alvNI  
bbvI  
bsrI fnu4HI  
maeIII  
bbvI  
bsrI

bsrI  
nsp8II  
mspI  
hpalI  
bsaW  
maeIII  
6601 TAAGTCCTGT CTTACCGGGT TGGACTCAAG ACGATAGTTA CCGGATAAGG CGCAGCGGTC GGGGTGAACG GGGGGTTCGT GCACACAGCC CAGCTGGAG  
ATCAGCACA GAATGGCCCA ACCTGAGTTC TGCTATCAAT GGCTATTCC CGCTGCCAG CCGGACTTGC CCGGCAAGCA GGTGTGTCGG GTCGAACCTC

msrI  
nsp8II  
fnu4HI  
bbvI  
hinPI  
hhal/cfoI  
pleI  
hinfi  
cauII  
hglAI/aspHI  
bsp1286  
bsiHKA  
bmyI  
apaLI/snoI  
alw44I/snoI  
alul

FIG. 6U

